

**46793 SZÁMÚ IFJÚSÁGI OTKA PÁLYÁZAT ZÁRÓJELENTÉSE**

**OTKA pályázat címe:**

A fog extracelluláris mátrixának és mikrocirculációjának vizsgálata

**Témavezető:**

Dr. Felszeghy Szabolcs

## AZ EGYES CÉLTERÜLETEK KUTATÁS EREDMÉNYEINEK SZABAD SZÖVEGES JELENTÉSE

### I. CÉLTERÜLET

A hialuronsav egy természetes poliszacharid, amely az emlősök szervezetének számtalan szövetében fellelhető, és többféle alapvető biológiai folyamatban vesz részt. Az erősen hidratált hialuronsavnak térkitöltő funkciója mellett jelentős szerepet tulajdonítanak a különböző fejlődésbiológiai folyamatokban: szerepe lehet a sejtek proliferációjának, migrációjának és differenciálódásának szabályozásában. Természetesen ezen folyamatokban nemcsak a HA passzív térkitöltő hatásának lehet szerepe, hanem a hialuronsav különböző sejtfelszíni receptorain keresztül (CD44, RHAMM) hathat az intracelluláris folyamatokra is. Munkánk során az ektoderma eredetű foglemez burjánzó, az ektomezenchimális szövetbe invaginálódó sejtjein, valamint a dentális papillában és a zománcpulpában korábbi munkánk során detektált hialuronsav (HA) szintéziséért felelős enzim az ún. hialuronsav szintáz (HAS) expressziós mintázatának leírását tűztük ki célul. *Eredményeink:* (1) A HAS-t expresszálják a fogcsíra sejtjei. A HAS tranziens módon megjelenik, legnagyobb mennyiségben a harang stádium kezdetén. (2) Várakozásainknak megfelelően a humán fogcsírák esetében a HAS expressziója szoros összefüggést mutatott az adott sejtek hialuronsav mintázatával. *Eredményeink alapján feltételezzük:* A HA a fogfejlődés során szerepet játszhat több folyamatban: (a) Szerepe lehet a fogléc sejtjeinek osztódásának és vándorlásának elősegítésében. (b) A dentális papillában jelenlévő, a fejlődés előrehaladásával fokozatosan csökkenő mennyiségben jelenlévő HA nemcsak strukturális komponense lehet a fogpapillának, hanem közreműködhet ezen szövet sejtjei közötti kismolekulatömegű anyagok transzportjában. (c) A HA feltehetően térkitöltő szerepet játszhat a zománckristályok kialakulásakor, stabilizáló hatása lehet a kristálykötegek irányított lerakódásában. (d) A Tomes-rostok körül kialakuló, HA-gazdag extracelluláris térségnek fontos szerepe lehet ezen struktúrák fejlődésében. (e)

Mivel a CD44 expresszió hasonló volt a fogcsíráknál tapasztalt hialuronsav mintázattal, feltételezhetjük, hogy a hialuronsav által mediált effektusok közvetítésében a CD44-nek központi szerepe lehet a humán fogfejlődés során.

Tudományos eredményeinket az Archives of Oral Biology közölte 2005-ben az alábbi specifikációval:

**Felszeghy** S, Meszar Z, Prehm P, Modis L. The expression pattern of hyaluronan synthase during human tooth development. Arch Oral Biol. 2005; 50:175-179. IF: 1,288

## II. CÉLTERÜLET

Alig több, mint egy évtizede tudjuk, hogy a sejtmembránon keresztül történő vízmozgás biztosításában az aquaporinoknak is fontos szerepük van. Peter Agre 2003-ban kapott megosztott kémiai Nobel-díjat Roderick MacKinnonnal, a sejtek határolóhártyáján lévő sejtmembráncsatornák (aquaporinok) felfedezéséért, valamint szerkezetük és működésük leírásáért. Az aquaporinok tulajdonképpen csatornaként szolgálnak a sejhártyában. Felfedezésük és működésük megértése segített megmagyarázni például a szemben lévő csarnokvíz keletkezését, a nyálelválasztást, az agyi térfogat szabályozását, az izzadást, az epe kiválasztását és a vesék működését. Elvégzett kísérleteink révén az irodalomban elsőként mi írhattuk le ezen molekulacsalád különböző tagjainak immunohisztokémiai expressziós mintázatát human fejlődő fogcsírákon.

A fejlődő fogtelep struktúrái körül kialakuló magasan hidratált extracelluláris mátrixnak (ECM) fontos szerepe lehet a fogcsíra sejteinek osztódásának és vándorlásának elősegítésében, mindazonáltal védőburkot is biztosíthat a fogtelep fejlődő részei számára. A fogtelep szöveteiben korábban megfigyelt időben és térben eltérő HA mintázat utalhat arra, hogy a magas víztartalmú sejtközi tér kialakulásához feltehetőleg szükség van a különböző sejtmembránok és az ECM közötti víztranszportra is. A víztranszporter aquaporinok (AQP) különböző típusait eddig számos, jelentős vízforgalmat bonyolító epitheliumban sikerült kimutatni, azonban a fejlődő fogtelep struktúráira vonatkozólag nem rendelkezünk irodalmi adattal.

*Eredményeink:* Munkánk során a különböző aquaporin izotípusokat (AQP 1-5, 7) anti-humán ellenanyagokkal mutattuk ki. A fejlődés korai harang stádiumában lévő mintáinknál az AQP1 csak az orális epithelium, valamint az ebből kiinduló fogléc sejtei körül lévő kapillárisokban volt detektálható. Ezzel szemben AQP 3 intenzív jelölődést mutatott az orális epithelium felső rétegeiben. Intenzív AQP4 és AQP5 jelölődés volt detektálható a zománcszerv különböző

sejtjeiben: a belső és külső zománchámsejteken, valamint a dentális lamina sejtjein. A későbbi stádiumokból származó mintáinknál, ahol már megfigyelhető volt a fog kemény szöveteinek szintézise, további érdekes aquaporin mintázatot figyeltünk meg. Az AQP1 továbbra is csak a kiserek endoteljén volt detektálható, hasonlóan az orális epithelium AQP3 pozitivitásához. Az AQP 4 és 5 típus intenzíven expresszáldott az odontoblasztokon és szekretoros ameloblasztokon és azok nyúlványain. Anti-AQP2 és anti AQP7-es antitestek használatakor egyik fejlődési stádiumban sem tapasztaltunk jelölődést a fogtelep különböző struktúráiban, amit a detektáló rendszerünk kiváló belső kontrolljaktént is értelmezhetünk. Kísérleteink alapján elmondhatjuk, hogy a humán fogcsírák esetében az AQP1, 3 és AQP4, 5 expressziója összefüggést mutatott az adott sejtek hialuronsav termelésével. Ez a megfigyelés arra utalhat, hogy az aquaporinok által biztosított vízmozgásnak is fontos szerepe lehet a fejlődő fogtelep különböző sejtjei körül kialakuló magas víztartalmú mikrokörnyezet létrehozásában, ami befolyásolhatja a fejlődő sejtek növekedését, differenciálódását, ezáltal a fogcsíra normális alakfejlődését. A dentin, illetve zománc mátrix kialakulásakor, a szintézisükért felelős sejtek AQP4 és AQP5 pozitivitásnak feltehetőleg szerepe lehet a kemény szövetek kezdeti hidratációs folyamataiban.

Ezen tudományos eredményeinket poszterként és előadásként is bemutathattuk mind hazai, mind nemzetközi rangos konferenciákon, és -Magyarorszárol elsőként- elnyertük az Európai Fogorvos Szövetség (CED) Robert Frank posztdoktori első díját is.

Fentebb ismertetett eredményeinkből tudományos dolgozatot készítettünk, mely az Archives of Oral Biology-ban került közlésre az alábbi specifikációval:

**Felszeghy S, Modis L, Nemeth P, Nagy G, Zelles T, Agre P, Laurikkala J, Fejerskov O, Thesleff I, Nielsen S.** Expression of aquaporin isoforms during human and mouse tooth development. Arch Oral Biol. 2004; 49:247-257. IF: 1,288

### III. CÉLTERÜLET

Az esztétikus fogászat előretörésével az esztétikus koronák, héjak, betétek készítése mindennapossá lett a gyakorló fogorvos számára. A teljes borítókoronák használata az alkalmazott fogpótlások között a legelterjedtebb. Használatának előnye, hogy a legjobb retenciós felületet biztosítja, a fog anatómiai formája tökéletesen visszaadható és véd a szekunder káriesz kialakulása ellen. Hátránya, hogy sok esetben a fog zománcrétegének teljes elvesztésével jár. Az előkészített, zománcborítást vesztett, megnyílt dentintubulusokat a definitív restauráció elteltéig csonkvédelemben kell részesíteni. A csonkvédelemnek két típusa ismert: protetikai- és kémiai csonkvédelem. A kémiai csonkvédelem alkalmazása során - kronológiailag megelőzve a protetikai csonkvédelmet - sealerek, lakkok zárják a preparáció során exponálódott dentincsatornákat. Klinikai, gyakorlati aspektusból minden élő fogon végzett fogászati beavatkozás és preparált felszínre applikált fogászati anyag a fogbélben különböző válaszreakciót indít be. Az esetek döntő részében ez, ha a pulpális keringésváltozások szempontjából nézzük, vasodilatáció. A fog nehézkes hozzáféréseiből adódó keringés-életteni vizsgálatok alacsony száma okozza a szegényes ismereteinket. A pulpális keringés alaposabb megismerése fiziológias és patológias körülmények közt egyaránt hozzájárul a még nem irreverzibilis pulpális elváltozások prevenciójához és terápiájához a fogorvostudományban.

Az elvégzett kísérlet célja az volt, hogy vitálmikroszkópos technikával megvizsgáljuk a különböző dentin sealerek hatását patkány fogak pulpális ereinek érátmérőjére, és mikrocirkulációjára. Különböző a mindennapi fogászati praxisban gyakran alkalmazott kémiai csonkvédőket alkalmaztunk kísérleti csoportjainkban: 1, Gluma Desensitizert, a 2. csoportban Seal & Protectet savazással a 3. csoportban Seal & Protectet lege artis – savazás nélkül és a 4. csoportban Prompt L-Popot applikáltunk Sprague-Dawley hím patkányok bal alsó metszőfogának 20-40 µm vastag dentin rétegére. A kontroll csoportban csupán álműtétet hajtottunk végre. A

steady-state állapot után a mikroszkóphoz csatlakoztatott digitális kamera segítségével felvettelt készítettünk a kiindulási állapotról, majd a vizsgálati anyag felhelyezését követő 5., 15., 30. és 60. percben. A statisztikai elemzést ANOVA-val végeztük. A kiindulási értékhez viszonyított érátmérő-változások azonos mérési időpontjaihoz tartozó értékeinek a kontrolltól való eltérése adta a teszt-anyag okozta elváltozás mértékét.

*Eredményeink* alapján a Gluma Desensitizer okozta a legkifejezettebb pulpális érátmérőváltozást, ezt követte a Seal & Protect sav használatával, a Prompt L-Pop, majd a legkisebb pulpális elváltozást a Seal & Protect okozta savazás nélkül. Eredményeink hasznos információkat nyújthatnak a hatásosan alkalmazható kémiai csonkvédő kiválasztásában, figyelembe véve nemcsak a végleges restauráció és ragasztócement típusát, hanem az anyag pulpára kifejtett hatását is.

Az előbbiekben részletezett kutatásaink eredményeit 2005-ben a Life Science folyóirat közölte az alábbi specifikációval:

**Kispélyi B.**, Lohina Z. i, Iványi I., MirzaHosseini S., Nyárasdy I., Rosivall L.: The effect of local nitric oxide synthase inhibition on the diameter of pulpal arteriole in dental bond material-induced vasodilation in rat. Life Sci 2005; 77: 1367-1374. IF: 2,52

## ÖSSZESÍTÉS

### **A 46793 számú ifjúsági OTKA pályázat keretén kívül végzett tudományos munka eredményei (*In extenso közlemény*):**

- 1: **Felszeghy** S, Modis L, Nemeth P, Nagy G, Zelles T, Agre P, Laurikkala J, Fejerskov O, Thesleff I, Nielsen S. Expression of aquaporin isoforms during human and mouse tooth development. Arch Oral Biol. 2004; 49:247-257. IF: 1,288
- 2: **Felszeghy** S, Meszar Z, Prehm P, Modis L. The expression pattern of hyaluronan synthase during human tooth development. Arch Oral Biol. 2005; 50:175-179. IF: 1,288
- 3: **Kispélyi** B., Lohina Z. i, Iványi I., MirzaHosseini S., Nyárasdy I., Rosivall L.: The effect of local nitric oxide synthase inhibition on the diameter of pulpal arteriole in dental bond material-induced vasodilation in rat. Life Sci 2005; 77: 1367-1374. IF: 2,52

### **Más, nem a 46793 számú ifjúsági OTKA pályázat keretén kívül végzett tudományos munka eredményei (*In extenso közlemény*):**

- 1: Szigeti ZM, Matesz C, Szekely G, **Felszeghy** S, Bacskai T, Halasi G, Meszar Z, Modis L. Distribution of hyaluronan in the central nervous system of the frog. J Comp Neurol. 2006 20;496:819-31.
- 2: Klekner A, **Felszeghy** S, Tammi R, Tammi M, Csecsei G, Modis L. Quantitative determination of hyaluronan content in cerebral aneurysms by digital densitometry. Zentralbl Neurochir. 2005; 66:207-212.
- 3: Matesz C, Modis L, Halasi G, Szigeti ZM, **Felszeghy** S, Bacskai T, Szekely G. Extracellular matrix molecules and their possible roles in the regeneration of frog nervous system. Brain Res Bull. 2005;66:526-531.
- 4: Schulte-Altendorneburg G, Droste DW, Kollar J, Beyna T, **Felszeghy** S, Modis L, Hegedus C, Ringelstein EB, Csiba L. Measuring carotid artery stenosis--comparison of postmortem arteriograms with the planimetric gold standard. J Neurol. 2005;252:575-582.
- 5: Csepany T, Boczan J, Magyar MT, Molnar S, Csiba L, Decsy J, Toth J, **Felszeghy** S, Szakall S, Szentkereszty Z, Bereczki D. Miller Fisher syndrome--a presenting clinical manifestation of lung cancer in a previously apparently healthy individual. J Neurol. 2004;251:898-900.